

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Das Verhalten der Leukozyten und der alkalischen
Neutrophilenphosphatase nach zweifacher
Applikation eines Endotoxins und eines aus
Polysacchariden bestehenden Pflanzenextraktes
bei Kaninchen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Josef Heuschneider
aus Stecken/CSSR

Gießen 1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

**Das Verhalten der Leukozyten und der alkalischen
Neutrophilenphosphatase nach zweifacher
Applikation eines Endotoxins und eines aus
Polysacchariden bestehenden Pflanzenextraktes
bei Kaninchen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Josef Heuschneider
aus Stecken/CSSR

Gießen 1969



Dekan: Prof. Dr. E. Habermann
Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Löffler
Correferent: Prof. Dr. H. Dost

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I EINLEITUNG	5
II PROBLEMSTELLUNG.....	8
III EIGENE UNTERSUCHUNGEN.....	10
A MATERIAL UND METHODEN.....	10
1. Versuchstiere.....	10
2. Verwendete Substanzen.....	10
3. Versuchsanordnung und Untersuchungs- methoden.....	11
4. Statistik.....	17
B ERGEBNISSE.....	19
a) nach Endotoxin (ETU-25)-Applikation	19
1. Gesamtleukozyten.....	19
2. Neutrophile Granulozyten.....	25
3. Lymphozyten.....	28
4. Normoblasten.....	29
5. Alkalische Neutrophilenphosphatase	30
6. Allgemeines Verhalten der Versuchs- tiere im Versuch.....	32
b) nach Echinacin ^(R) -Applikation.....	34
1. Gesamtleukozyten.....	34
2. Neutrophile Granulozyten.....	36
3. Lymphozyten.....	38
4. Normoblasten.....	38
5. Alkalische Neutrophilenphosphatase.	38
6. Allgemeines Verhalten im Versuch...	40
c) nach physiologischer Kochsalzlösung	41

	Seite
IV DISKUSSION.....	43
V ZUSAMMENFASSUNG.....	53
VI LITERATURVERZEICHNIS.....	57
VII LEBENSLAUF	64

I EINLEITUNG

Reize sehr unterschiedlicher Art führen zu einer Veränderung der Leukozytenzahl im peripheren Blut. Wird durch entsprechenden Reiz eine Leukozytose erreicht, so erlaubt dieser Effekt Rückschlüsse auf die Leukozytenreserve des Organismus und zum Teil auch auf die Knochenmarksfunktion. Die Prüfung der Knochenmarksfunktion ist von praktischer Bedeutung, wenn eine Behandlung mit Cytostatika geplant ist (22, 24, 25, 14, 5).

Aus diesen und anderen Gründen wurde in der Vergangenheit nach geeigneten Substanzen gesucht, die in der Lage waren, eine Leukozytenreaktion im Sinne einer Leukozytose auszulösen. 1945 führte MOESCHLIN mit Pyrifer, einer bakteriellen Substanz, Funktionsproben des Knochenmarks aus. 1949 verwandten BLUMENCRON und BORKENSTEIN sterilisierten Ruß.

VALENTINE applizierte ACTH 8-stündlich über 3 Tage. HEILMEYER (14), BERG (5), CRADDOCK (10), MERKER (24, 25) und andere benutzten Pyrexal, ein Lipopolysaccharid aus *Salmonella abortus equi*.

Alle diese Stoffe führten beim gesunden Organismus in der Regel zu einem phasenhaften Ablauf der Leukozytenreaktion. MERKER (24) untersuchte neben dem Verhalten der Leukozyten das Verhalten der alkalischen Neutrophilenphosphatase und kam zu folgenden Ergebnissen:

Nach Pyrexalgabe beim Menschen folgte nach einer initialen Leukopenie eine neutrophile Leukozytose in der 2. - 4. Stunde, die mit einem Minimum an alkalischer Phosphataseaktivität

zusammenfiel. In der nächsten Phase sank die absolute Leukozytenzahl und erreichte in der 24. Stunde wieder ihren Ausgangswert. In der gleichen Phase stieg die Aktivität der alkalischen Phosphatase ständig an. Der Gipfelpunkt der Enzymaktivitätskurve lag in der 36. - 48. Stunde. In der letzten Phase sank die Aktivität über 3 - 4 Tage zum Ausgangswert ab, während die Leukozytenzahlen konstant blieben.

Bei den meisten Reizsubstanzen fand man neben diesem gesetzmäßigen Verhalten der Leukozyten und ihrer alkalischen Phosphatase noch andere, regelmäßig wiederkehrende Reaktionen des Körpers. So traten Fieber, Acidose, Stimulierung der Nebennierenrinde und andere Symptome auf. HOFF (17), der sich besonders damit beschäftigte, nannte Stoffe, die eine solche Reaktion hervorrufen können, unspezifische Reizstoffe. Die Reaktion selbst bezeichnete er als Abwehrsyndrom, bei dem die "vegetative Gesamtumschaltung" eine Rolle spielt. Die Leukozytenreaktion ist unter diesem Aspekt ein Zeichen unter vielen anderen für das Einsetzen einer umfassenden Abwehrreaktion des Organismus. In der Praxis werden diese Effekte in der Reizkörpertherapie zur Steigerung der Abwehr ausgenutzt (21, 27, 28, 26, 29).

Injiziert man Endotoxine gramnegativer Stäbchen oder Kokken in geeigneter Weise und Menge beim Tier, so kann in vielen Fällen noch ein anderes Geschehen beobachtet werden. Gibt man z.B. Kaninchen in einem Abstand von 24 Stunden zweimal Endotoxin i.v., so sterben sie häufig nach kurzer Zeit an

Hämorrhagien und Nekrosen der Nieren und anderer Organe.

Ursache hierfür ist eine intravaskuläre, disseminierte Gerinnung mit nachfolgender Verbrauchskoagulopathie (LASCH).

1924 hatte der Italiener GIUSEPPE SANARELLI diese generalisierte Reaktion bei Kaninchen entdeckt. 1928 berichtete der Amerikaner GREGORY SHWARTZMAN von einer entsprechenden lokalen Hautreaktion. Das Zustandekommen des nach den beiden Forschern genannten SANARELLI-SHWARTZMAN-PHÄNOMENS (= SSP) ist bisher noch nicht in allen Einzelheiten geklärt. Ob und welche Rolle die Leukozyten beim Entstehen des SSP spielen ist mehr umstritten. So konnten einige Autoren wie BECKER (3), SCHLANG (20), STETSON und GOOD (33), BENNET und CLUFF (4) in ihren Versuchen zeigen, daß ein lokales SSP nicht auslösbar war, wenn die im Blut kreisenden Leukozyten nach Gabe von Lost unter $1200/\text{mm}^3$ absanken. STETSON und GOOD (33) wiesen dies auch für das generalisierte SSP nach und folgerten daraus, daß die Leukozyten eine fundamentale Rolle in der Reaktion spielen.

Andere Autoren wie McKAY (23) zeigten dagegen in ihren Versuchen mit infundierten Leukozytensuspensionen an präparierten Kaninchen und Ratten, daß die Leukozyten kein Material enthalten, das aktiv genug ist, die Bildung von SSP-charakteristischen Fibrinthromben zu bewerkstelligen.

Demnach steht bis heute lediglich fest, daß eine Leukozytenreaktion stattfindet. Unklar ist, ob diese Reaktion Voraussetzung für die Auslösung eines SSP ist oder nicht.

II PROBLEMSTELLUNG

In unseren Experimenten versuchten wir mit zwei verschiedenen Reizsubstanzen eine Reaktion der Leukozyten hervorzurufen.

Die eine Substanz war das Endotoxin ETU 25, ein Stoff bakteriellen Ursprungs. Stoffe bakteriellen Ursprungs werden sowohl zur Prüfung der Leukopoesis (5, 24, 25) als auch zur Reizkörpertherapie (Pyrexal)¹ (21), als auch zur Erzeugung eines Sanarelli-Shwartzman-Phänomens (4, 23, 33) angewandt. Die zweite Substanz, das Pflanzenextrakt Echinacin^(R) x, wird seit längerer Zeit in der Reizkörpertherapie benutzt (26, 27, 28, 29).

Mit Hilfe dieser beiden Reizsubstanzen versuchten wir zu klären, wie die Reaktion der Leukozyten im einzelnen bei Kaninchen abläuft und ob die Reaktionen bei beiden Substanzen identisch sind.

Ferner versuchten wir herauszufinden, wie die Leukozyten auf einen zweiten Reiz des gleichen Stoffes innerhalb einer bestimmten Zeit und mit erhöhter Dosis reagieren. Da die Versuchsanordnung so gewählt wurde, daß die zweite Gabe 24 Stunden später erfolgte, war auch ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen theoretisch auslösbar. Wir versuchten zur Klärung der Frage, welche Rolle die Leukozyten beim Entstehen dieses Phänomens spielen, einen Beitrag zu leisten:

In der Versuchsreihe mit Endotoxin ging es darum, ob zwi-

x Firma Dr. Madaus & Co.

schen dem Verhalten der Leukozyten von Kaninchen mit und ohne SSP ein Unterschied besteht oder nicht.

In der Versuchsreihe mit Echinacin ^(R) interessierte uns in diesem Zusammenhang, ob mit Echinacin ^(R) ein SSP überhaupt auslösbar ist und wie in einem solchen Fall die Leukozyten reagieren. Um differenzierte und exaktere Aussagen zu erhalten, wurden bei allen Versuchen außer der Gesamtleukozytenzahl auch Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten, Plasmazellen sowie Erythrozytenvorstufen bestimmt und ihre Reaktion bei allen Fragestellungen ausgewertet. Ebenso wurde mit der alkalischen Neutrophilenphosphatase verfahren.

III EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A MATERIAL UND METHODEN

1. Versuchstiere:

Es wurden Kaninchen beiderlei Geschlechts, teils gleicher Rasse (Versuchsgruppe B), teils verschiedener Rassen, (Versuchsgruppen A und C) verwandt. Ihr Gewicht lag bei 2 - 3 Kg. Ernährt wurden sie mit Trockenfutter und Leitungswasser.

2. Verwendete Substanzen und Dosierung:

In der 1. Versuchsreihe, Gruppe A, wurde Endotoxin ETU 25 benutzt. ETU 25 stammt aus E. coli 55 und wurde nach der Methode von BOVIN gewonnen.

Die Dosis der 1. Injektion betrug immer 20 γ ETU 25 pro Kg Kaninchengewicht. Die Dosis der 2. Injektion, 24 Stunden später verabreicht, war in 5 Fällen 30 γ, in 5 Fällen 40 γ und in 7 Fällen 50 γ Endotoxin pro Kg Kaninchen. Die Substanz wurde bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt. Vor Gebrauch wurde sie leicht erwärmt.

In der 2. Versuchsreihe, Gruppe B, wurde Echinacin^(R) verwandt. Echinacin^(R) ist ein aus Polysacchariden bestehender Extrakt aus dem roten Sonnenhut, der Echinacea purpurea. Bei unseren Versuchen betrug die Dosis der 1. Injektion 0,5 ml Echinacin^(R)/Kg Körpergewicht. Für die 2. Injektion, 24 Stunden später, wurden 2 ml/Körpergewicht benutzt. Auch das Echinacin^(R) wurde bei Kühlschranktemperatur aufbewahrt und nur kurz vor der Anwendung auf Zimmertemperatur erwärmt.

Für die Kontrollversuche, Versuchsgruppe C, verwendeten wir physiologische Kochsalzlösung, die in entsprechenden Dosen (0,5 und 2 ml/Kg Körpergewicht) und im gleichen Zeitabstand wie die beiden anderen Substanzen verabreicht wurde.

Bei allen drei Versuchsgruppen wurden die Substanzen in die Ohrvenen der Tiere injiziert. Eine ausreichende Venenfüllung war nach Entfernung der Haare durch leichtes Reiben und Erwärmen mit einer Glühbirne zu erzielen.

3. Versuchsanordnung und Untersuchungsmethoden:

Alle Versuche begannen um 7 Uhr morgens und fanden in den Monaten Juni - September 1967 statt. Es wurden drei Versuchsreihen durchgeführt. In der Versuchsreihe A wurden 20 Kaninchen mit Endotoxin behandelt. In der Versuchsreihe B wurde bei 8 Kaninchen Echinacin ^(R) und in der Versuchsreihe C zur Kontrolle bei 5 Kaninchen physiologische Kochsalzlösung angewandt. Zur Untersuchung der Leukozyten und der alkalischen Neutrophilenphosphatase wurde in bestimmten Zeitabständen Blut entnommen. Dies geschah jeweils vor der 1. Injektion und darauf in der 2., 4., 12. und 24. Stunde. Nach der 2. Injektion in der 24. Stunde wurden Blutentnahmen entsprechend in der 26., 28., 36., 52. und 72. Stunde vorgenommen. In der Versuchsreihe B wurden noch Zwischenwerte in der 1., 8. und 32. Stunde gemessen. In Vorversuchen waren diese Zeitabstände als die günstigsten zur Beobachtung der Leukozyten- und Enzymreaktion ermittelt worden.

Das Blut wurde durch Anstechen der Ohrvenen mit Einmalkanülen, von distal nach proximal fortschreitend, gewonnen.

Zur Steigerung der Durchblutung wurden die Ohren mit einer Glühbirne bestrahlt. Schlecht stillbare Blutungen konnten mit Tupfern und Ohrklemmen zum Stillstand gebracht werden.

Für die Untersuchung der Leukozytenzahl wurde Blut in geeichten Leukozytenpipetten bis zur Marke 0,5 aufgezogen und mit 4 %iger Essigsäurelösung verdünnt bis zur Marke 11. Das Gemisch wurde 3 - 4 Minuten geschüttelt. Die Bestimmung der Leukozytenzahl/ mm^3 erfolgte mit einer Neubauer-Zählkammer. Zur Kontrolle wurden die Zählkammern mit dem gleichen Gemisch 2 - 3 Mal gefüllt.

Bei jeder Blutentnahme wurden ferner zwei Blutausstriche angefertigt. Ein Ausstrich wurde nach Pappenheim angefärbt und diente zur Ausdifferenzierung der Leukozyten. Dazu zählte ich jeweils 100 Zellen aus.

Der zweite Blutausstrich diente der Bestimmung der alkalischen Phosphataseaktivität der neutrophilen Granulozyten. Dazu wurde eine Modifikation der Azofarbstoff-Technik von KAPLOW (18) angewandt: Ausstriche, die 1 - 2 Tage an der Luft getrocknet worden waren, wurden zunächst in einem Methanol-Formol-Gemisch, bestehend aus 9 Teilen absoluten Methanols und 1 Teil Formaldehyd, 30 Sekunden lang bei 4°C fixiert, danach in Leitungswasser gespült und erneut luftgetrocknet. Reaktion erfolgte mit Di-Na- α -Naphthylphosphat und Echtrotsalz TR. Im einzelnen wurden 10 mg α -Naphthylphosphat und 40 mg Echtrotsalz TR in Tris-Puffer frisch gelöst. Der Tris-Puffer bestand aus einer 0,1 M Tris-(hydroxymethylaminomethan)Stammlösung mit einem p_H

von 9,5. Für eine Färbung (5 - 6 Ausstriche) wurden 40 ml von dieser Lösung verwandt. Die oben beschriebenen Lösungen wurden unmittelbar vor der Färbung gemischt und in eine kleine Kivette filtriert. Die Inkubation der Präparate in diese Mischung erfolgte bei Zimmertemperatur und dauerte 30 Minuten. Danach erfolgte wieder Spülung in Leitungswasser. Die Kernfärbung wurde 8 Minuten lang mit Hämalun durchgeführt. Die letzte Spülung in Leitungswasser, das "Bläuen", dauerte 15 Minuten. Danach wurden die gefärbten Ausstriche mit Gelatinol zur Konservierung eingedeckt.

Zur Bestimmung der Enzymaktivität wurde die Menge des bei dieser Azokupplungsreaktion entstandenen braunroten Niederschlags im Zytoplasma der neutrophilen Granulozyten bewertet. 100 ausgezählte Zellen wurden in die Reaktionsklassen 0 - 4 eingeteilt. Reaktionsklasse 0 bedeutet fehlende Reaktion. Reaktionsklasse 4 bedeutet, daß das gesamte Zytoplasma mit braunroten Granula angefüllt ist. (Abb. I)

Die Anzahl der in die einzelnen Reaktionsklassen eingestuften Zellen wird mit ihrem entsprechenden Klassenfaktor multipliziert. (Tab. 1) Die Summe aus diesen Produkten ist die sogenannte Aktivitätszahl (= Index) des Ausstriches. (BRODELL und SWISHER (8); KAPLOW (18))

Für den Nachweis einer positiven Sanarelli-Schwartzman-Reaktion wurden die gestorbenen Kaninchen seziiert, Niere, Milz, Leber, Lunge und Herz entnommen und in 4 %igem Formalin fixiert. Als entscheidendes Kriterium für ein positives SSP wurde der Nachweis von intrakapillären Fibrinthromben in einem oder meh-

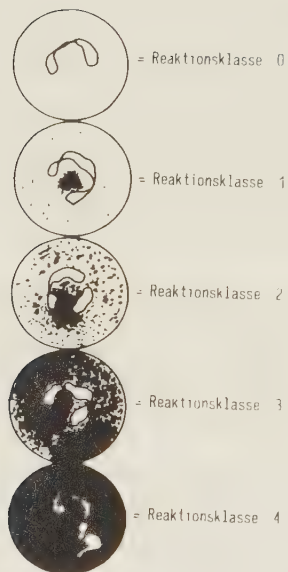


Abb. I: Aktivitätsstufen der alkalischen
Neutrophilenphosphatase.

Reaktionsklassen	Anzahl der Zellen	Klassenfaktoren	Produkte
0	8	0	0
1	27	1	27
2	40	2	80
3	24	3	72
4	1	4	4
100		Aktivitätszahl - 183 des Ausstriches	

Tab. 1: Beispiel zur Ermittlung einer Aktivitätszahl.
Kaninchen 7 in der 4. Stunde.

reren der untersuchten Organe gewertet.^x Überlebten die Kanin-
c^ken die 72. Stunde, so wurden sie danach mit 2 Ampullen
Pernocton^(R), intracardial injiziert, getötet. Der Tod trat
augenblicklich und ohne jegliche Schmerzreaktion ein. Zwei
Kaninchen wurden erst am 5. Tag getötet.

x

Die histologische Untersuchung wurde freundlicherweise von
Herrn Dr. Ch. Mittermayer, Pathologisches Institut der Justus-
Liebig-Universität, Gießen, vorgenommen.

4. Statistik:^x

Es wurden zwei Tests angewandt: der t-Test und der 4-Felder-chi²-Test.

Wenn die Werte annähernd gleichmäßig verteilt waren, so wurde der t-Test benutzt. Dabei wurde noch unterschieden, ob es sich um abhängige Stichproben oder unabhängige Stichproben handelte.

Unter abhängigen Stichproben ist der Vergleich zweier Meßreihen an denselben Versuchstieren zu verstehen.

Beispiel: Die Untersuchungswerte vor und nach Applikation eines Reizstoffes werden bei den gleichen Kaninchen erhoben und miteinander verglichen.

Die Formel für t lautet in diesem Fällen:

$$t = \frac{\bar{d}}{s} \cdot \sqrt{N} \quad d = x_1 - x_2$$

$$\bar{d} = \frac{\sum d}{N}$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum d^2 - (\sum d)^2/N}{N - 1}}$$

Unabhängige Stichproben sind dadurch charakterisiert, daß die Meßwerte an verschiedenen Versuchstieren gewonnen und miteinander verglichen werden, z.B. ein Meßwert aus der Versuchsgruppe A wird mit einem Meßwert der Versuchsgruppe B verglichen.

^x

Bei der statistischen Auswertung der Meßdaten beriet uns Herr Dr. D. Beckmann aus der Psychosomatischen Klinik in Gießen. Ich möchte ihm für seine wertvolle Hilfe herzlich danken.

Die Berechnung erfolgte hier nach der Formel:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s} \cdot \sqrt{\frac{N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}} \quad \bar{x}_1 = \frac{\sum x_1}{N_1}$$

$$\bar{x}_2 = \frac{\sum x_2}{N_2}$$

$$s = \frac{\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{N_1} + \sum x_2^2 - \frac{(\sum x_2)^2}{N_2}}{N_1 + N_2 - 2}$$

Bei einigen Vergleichen zeigte es sich, daß die Stichproben inhomogen waren, d.h., daß die Größenordnung der Streuung der einen Stichprobe die der anderen erheblich überstieg. In solchen Fällen wurde der 4-Felder-chi²-Test angewandt. Hierzu wurden die Meßwerte nach bestimmten Kriterien klassifiziert. Z.B. wurden Meßwerte, die um 30 % und mehr höher lagen als ihr Ausgangswert mit dem Zeichen > und alle übrigen mit dem Zeichen < klassifiziert.

Es galt folgende Formel:

$$\chi^2 = \frac{N \cdot (bc - ad)^2}{(a+b) \cdot (c+d) \cdot (a+c) \cdot (b+d)}$$

$$N = a+b+c+d$$

	>		<
I.	a		b
II.	c		d

B ERGEBNISSE

a) Die Untersuchungen der Leukozytenreaktion nach Endotoxin (ETU 25)-Applikation ergeben folgende Resultate:

1. Die Gesamtleukozyten (Abb. II) des peripheren Blutes sinken nach der 1. Endotoxingabe bei allen 20 Kaninchen innerhalb kurzer Zeit stark ab, mit einem Minimum in der 2. - 3. Stunde. Aus Vorversuchen ist zu ersehen, daß die Leukozyten schon nach 30 Minuten auf ungefähr 50 % abfallen. Wie der Kurvenverlauf zeigt, erfolgt ein Wiederanstieg der Leukozytenzahl/mm³ zwischen der 4. und 6. Stunde. Ein Maximum wird 24 Stunden nach Versuchsbeginn erreicht. Nach der 2. Endotoxingabe in der 24. Stunde sinken die Leukozyten wie nach der ersten Injektion ab. Auch jetzt ist ein Wiederansteigen der Leukozyten zu beobachten; lediglich das zweite Maximum in der 52. Stunde scheint nach der Mittelwertskurve größer zu sein als das erste Maximum. Bei Anwendung des t-Testes für abhängige Stichproben kann allerdings kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Maxima festgestellt werden. ($t = 1,725$; $df = 11$). Von 12 Tieren zeigen 7 einen stärkeren Leukozytenanstieg nach der zweiten Endotoxingabe. Die höheren Dosen bei der zweiten Injektion haben keinen Einfluß auf die Leukozytenreaktion. (Tab. 2)

Die statistische Auswertung geht vor allem der Frage nach, ob der Anstieg der Leukozyten nach der 1. und 2. Injektion im Vergleich mit den Ausgangswerten in der Stunde Null statistisch signifikant ist. Es wird der t-Test für abhängige Stichproben angewandt. Dabei zeigt sich, daß das Maximum in der 24. Stunde

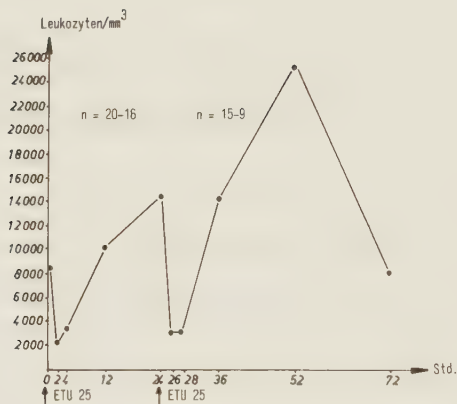


Abb. II: Reaktion der Gesamtleukozyten nach ETU 25-Applikation.

↑ = Zeitpunkt der Injektion von ETU 25.

n = Zahl der Kaninchen, von denen Meßwerte ermittelt werden konnten.

Die erste Zahl gibt die Anzahl der bei der 1.

bzw. 2. ETU 25-Gabe vorhandenen Kaninchen wieder.

Die durch einen Strich abgesetzte zweite Zahl gibt die Anzahl der bis zur 24. bzw. 72. Stunde verbliebenen Tiere an.

Zweite Endotoxingabe (24.Std.)	Kaninchen - Nr.	Leukozyten bei 2. Max.
30 γ / kg Körpergewicht	2	16 000
	3	15 000
	4	53 000
	5	71 000
40 γ / kg Körpergewicht	6	25 000
	7	22 000
	18	8 200
	20	7 000
50 γ / kg Körpergewicht	8	8 000
	11	12 000
	12	10 800
	15	80 000
	16	11 000

Tab. 2: Leukozytenwerte der 52. Stunde (= 2. Maximum)
bei steigender Dosierung der 2. Endotoxin-Gabe.
Ausgewertet sind jeweils die ersten 4 Kaninchen
eines Kollektivs mit gleicher Dosierung.

im Vergleich zu den Ausgangswerten vor Versuchsbeginn auf dem 1 % Niveau statistisch signifikant ist. ($t = 3,76$; $df = 15$) Der Unterschied zwischen dem Maximum in der 52. Stunde und den Ausgangswerten in der Stunde Null ist ebenfalls statistisch zu sichern und zwar mit $p \approx 0,05$ ($t = 2,455$; $df = 11$).

Da der initiale Abfall nach beiden Injektionen bei allen Tieren ohne Ausnahme sehr deutlich ist, erweist sich eine statistische Berechnung als überflüssig.

Bei der Prüfung der Frage, ob die Leukozyten bei Kaninchen mit positivem Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (= SSP) und bei Kaninchen ohne SSP unterschiedlich reagieren, wird folgendes gefunden:

Von 17 Tieren, die die 2. Endotoxingabe um mindestens 1 Stunde überleben, zeigen 8 eindeutig das SSP. Als Kriterien für den positiven Ausfall der Reaktion dienen intravaskuläre Fibrinthromben, die in unseren Versuchen bis auf eine Ausnahme gleichzeitig mit Nekrosen vorkommen. (Abb. III) Zur histologischen Auswertung sind außer den Nieren noch die Leber, Milz und Lunge der Kaninchen gelangt.

Wie die Abbildung IV demonstriert, unterscheidet sich die Reaktionsweise der Leukozyten von SSP-positiven Kaninchen nicht von dem Verhalten der Leukozyten von Kaninchen ohne SSP. Bei ausgelöstem und nicht auslösbarem SSP zeigt sich jeweils der gleiche phasenhafte Verlauf ohne besondere Abweichungen in der Stärke oder dem zeitlichen Ablauf der Reaktion.

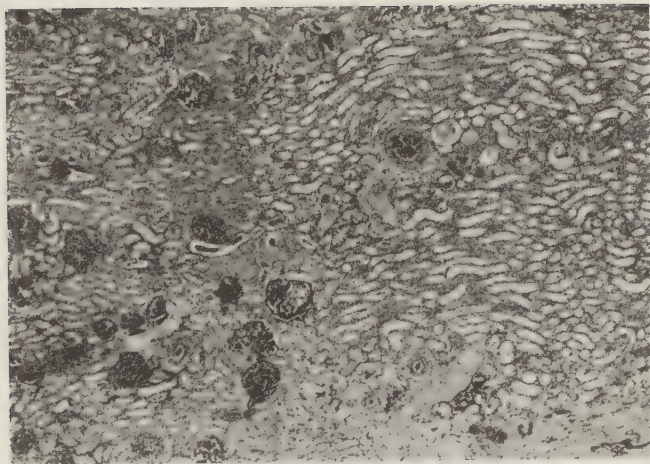


Abb. III: Histologisches Bild einer Sanarelli-Schwartzman-Phänomen-Niere.
(Kaninchen 7)

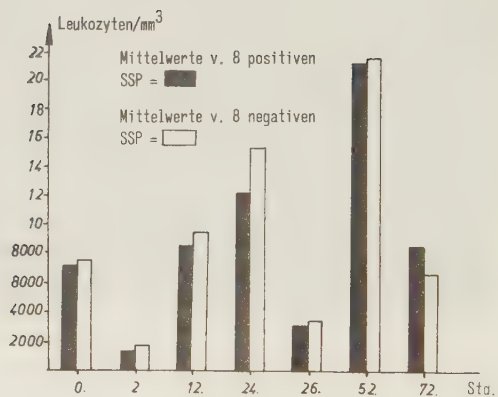


Abb. IV: Gleichartiges Verhalten der Leukozyten
im ETU-25 Versuch von SSP-positiven und
SSP-negativen Kaninchen.

Unter Berücksichtigung dieses Ergebnisses erübrigt sich eine getrennte Darstellung der Leukozytenreaktion von SSP-positiven und SSP-negativen Fällen in Abb. II.

Ein Zusammenhang besteht in der Häufigkeit der Auslösung des Phänomens und der Dosierung der 2. Endotoxingabe (Tab. 3) Mit 30 γ ETU 25/Kg läßt sich bei keinem von 5 Kaninchen ein SSP auslösen. Dagegen kann mit 40 γ und 50 γ Endotoxin/Kg als Zweitinjektion bei 8 von 12 Tieren ein SSP ausgelöst werden. Drei Kaninchen starben bereits nach der ersten Injektion.

Bei der Differenzierung der Leukozyten im Blutaussstrich wurde zunächst der prozentuale Anteil einer Gruppe bestimmt. Mit Hilfe der Gesamtleukozytenzahl errechnete ich dann ihre absolute Zahl. Beim Differenzieren von 100 Leukozyten wurden auch die kernhaltigen Erythrozytenvorstufen mitgezählt, da diese auch in den Leukozyten-Zählkammern als kernhaltige Zellen mitgezählt worden waren.

2. Die neutrophilen Granulozyten (Abb. V) verhalten sich nach der 1. und 2. Endotoxingabe ähnlich wie die Gesamtleukozyten. Abfall und Anstieg der neutrophilen Granulozyten erfolgt zur gleichen Zeit wie bei den Gesamtleukozyten. Auch hier scheint das 2. Maximum in der 52. Stunde höher zu liegen als das erste Maximum in der 24. Stunde. Die Berechnung von t für abhängige Stichproben ergibt aber nur $t = 1,44$ bei $df = 10$ und damit keinen signifikanten Unterschied. Maximum 1 in der 24. Stunde ist auf dem 1 % Niveau und Maximum 2 auf dem 5 % Niveau gegenüber den Ausgangswerten in der Stunde Null signifikant. Angewendet wird der t-Test für

2. Endotoxingabe	Kaninchen - Nr.	Ausfall des SSP
30 γ / kg Körpergewicht	1	negativ
	2	negativ
	3	negativ
	4	negativ
	5	negativ
40 g / kg Körpergewicht	6	++
	7	++
	17	negativ
	18	++
	20	++
50 g / kg Körpergewicht	8	negativ
	10	++
	11	+
	12	negativ
	13	negativ
	15	++
	16	++

++ = Fibrinthromben und Nekrosen
 + = Fibrinthromben allein

Tab. 3: Häufigkeit der Auslösung des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens in Abhängigkeit von der Dosierung der 2. Injektion.
 Ergebnisse von 17 Kaninchen, die die 2. Injektion um einige Stunden überlebten.

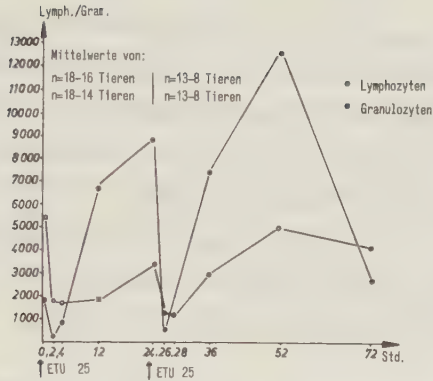


Abb.: V: Reaktion der neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten nach ETU 25-Applikation.

n = Anzahl der ausgewerteten Kaninchen.

Die erste Zahl gibt die Zahl der Tiere während der 1. bzw. 2. Injektion an, die durch einen Strich abgesetzte zweite Zahl gibt die verbliebenen Tiere bis zur 24., bzw. 72. Stunde wieder.

Oberer n-Reihe: Anzahl der Kaninchen für die Lymphozytenauszählung.

Untere n-Reihe: Anzahl der Kaninchen für die neutrophilen Granulozytenauszählung.

Ordinate: Zellzahl/mm³

abhängige Proben.

Maximum 1: $t = 3,98$; $df = 15$

Maximum 2: $t = 2,52$; $df = 10$

In den Phasen, in denen die neutrophilen Granulozyten hohe Werte aufweisen, finden sich vermehrt unreife Zellen. Außerdem kann unmittelbar nach Endotoxingabe eine erhöhte Klebrigkeit beobachtet werden. Die neutrophilen Granulozyten sind dann von einem Wall von Thrombozyten umgeben.

Ein unterschiedliches Reagieren der neutrophilen Granulozyten bei Sanarelli-Schwartzman-Phänomen positiven und negativen Tieren ist nicht feststellbar.

3. Die Lymphozyten (Abb. V) reagieren auf zweimalige Endotoxingabe anders als die Gesamtleukozyten und die neutrophilen Granulozyten. Wie der Kurvenverlauf zeigt, erfolgt zunächst auch hier ein steiler Abfall der Lymphozytenzahl im peripheren Blut. Die niedrigen Lymphozytenwerte bleiben aber längere Zeit bestehen. Erst in der 24. Stunde ist ein geringer Anstieg der Mittelwertskurve zu vermerken. Nach der 2. Injektion bietet sich ein ähnliches Bild:

Tiefer Abfall der Werte und geringer Wiederanstieg; dieser erreicht in der 52. Stunde den Ausgangswert, überschreitet ihn aber nicht wesentlich (nur in 4 von 11 Fällen). Am 3. Tag sind keine großen Schwankungen mehr feststellbar.

Bei der statistischen Betrachtung erweist sich der Abfall nach der 1. Endotoxingabe als statistisch signifikant. Verglichen werden die Meßwerte der Stunde Null und der 4. Stunde.

($t = 3,43$; $df = 15$; $p \approx 0,01$).

Der Wiederanstieg der Lymphozyten in der 24. Stunde ist vom Minimum in der 4. Stunde aus betrachtet mit $p \approx 0,01$ hoch signifikant ($t = 4,847$; $df = 15$).

Mit dem Ausgangswert in der Stunde Null verglichen, ist jedoch der Meßwert in der 24. Stunde im 5 % Niveau statistisch gesichert tiefer. ($t = 2,92$; $df = 15$) Das bedeutet, daß nur 5 Fälle von 100 in der 24. Stunde einen gleichgroßen oder größeren Lymphozytenwert aufweisen als vor Beginn des Versuches. Dagegen kann ein Unterschied zwischen den Meßwerten der 24. Stunde und denen der 52. Stunde statistisch nicht gesichert werden ($t = 1,97$; $df = 11$).

Der Anstieg in der 52. Stunde ist verglichen mit dem Minimum in der 28. Stunde auf dem 1 % Niveau signifikant ($t = 3,41$; $df = 11$).

Ein unterschiedliches Verhalten der Lymphozyten bei SSP-positiven und -negativen Kaninchen ist auch hier nicht zu konstatieren.

4. Als typisch für die Endotoxinversuche zeigt sich das regelmäßige Erscheinen von Normoblasten im Blutausstrich. Bei allen Tieren steigen die Erythrozytenvorstufen schon 2 - 4 Stunden nach der ersten Gabe des Endotoxins an. Maximalwerte werden in der 28. - 36. Stunde erreicht. In einigen Fällen steigt der Anteil der Normoblasten auf 50 - 74 % aller ausdifferenzierten Zellen, was bis 2600 Zellen/mm³ bedeutet. Monozyten und Plasmazellen kommen nur in sehr geringem Maße vor, sodaß über ihr Verhalten nichts Exaktes ausgesagt werden

kann.

Eosinophile und basophile Granulozyten sind beim Ausdifferenzieren zwar berücksichtigt, aber nicht ausgewertet worden. In Parallelversuchen wurden sie mit speziellen Färbungen ermittelt: Sie sanken sofort nach Endotoxingabe ab und erreichten den Ausgangswert während der Versuchszeit nicht mehr.

5. Die alkalische Neutrophilenphosphatase (Abb. VI) reagiert nach beiden Endotoxingaben zunächst mit einem Anstieg ihrer Aktivität in der 2. - 4. bzw. 26. - 28. Stunde. Ebenso ist nach beiden Injektionen, je 24 Stunden später, ein Abfall zu verzeichnen. Überraschend kommt am 3. Tag in der 72. Stunde ein starker Anstieg der Aktivität bei allen überlebenden Tieren zustande. In 6 von 8 Fällen ist der Aktivitätsindex in dieser Phase ungefähr doppelt so hoch wie die Ausgangsaktivität zu Beginn des Versuches. Der statistische Vergleich dieser Werte mit der Ausgangsaktivität in der Stunde Null ergibt nach dem t-Test für abhängige Werte eine hohe Signifikanz.

($p \approx 0,01$; $t = 8,23$; $df = 6$)

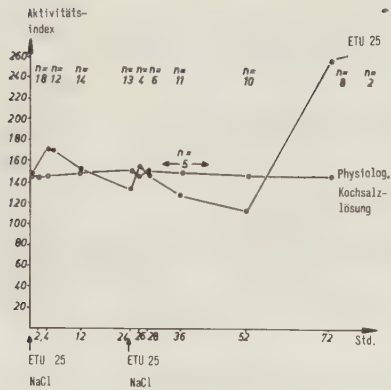


Abb. VI: Verhalten der alkalischen Neutrophilenphosphatase
nach ETU 25-Gabe = ●
und nach physiologischer Kochsalzlösung = ○
n = Anzahl der auszählbaren Ausstriche.
Obere n-Reihe = nach ETU 25.
Untere Zahl = nach physiologischer Kochsalzlösung.

Die SSP-positiven und SSP-negativen Kaninchen lassen in Bezug auf die Enzymreaktion keine Unterschiede erkennen, auch nicht in der Phase der stärksten Reaktion in der 72. Stunde. (Abb. VII)

Zwei Kaninchen, die in der 72. Stunde nicht getötet worden sind, weisen auch am 4. und 5. Tag eine unvermindert hohe Enzymaktivität auf. Der Aktivitätsindex ist zwischen 279 und 296. Im einzelnen ergibt die weitere statistische Auswertung folgendes Bild:

Verglichen werden jeweils die Aktivitätswerte vor Beginn des Versuches mit den Aktivitätswerten bestimmter Zeitpunkte:

1. Mit den Maximalwerten in der 4. Stunde;
2. Mit den abgesunkenen Aktivitätszahlen in der 24. Stunde;
3. Mit den Minimal-Werten der 52. Stunde.

Bei Anwendung des t-Testes für abhängige Stichproben kann bei allen drei Vergleichen ein Unterschied statistisch gesichert werden.

Im ersten Vergleich beträgt $p \approx 0,05$; $t = 2,491$; $df = 11$.

Im zweiten Vergleich kann der Unterschied auf dem 1 % Niveau statistisch gesichert werden ($t = 3,366$; $df = 10$).

Im dritten Vergleich wird für $p \approx 0,01$ errechnet ($t = 3,589$; $df = 10$).

6. Das allgemeine Verhalten der Kaninchen während der Endotoxinversuche läßt sich wie folgt skizzieren:

Während der 3-tägigen Versuche nehmen die Kaninchen im Durchschnitt 100 - 300 g an Gewicht ab. Schon unmittelbar nach der 1. Injektion machen die Tiere einen sehr kranken Eindruck,

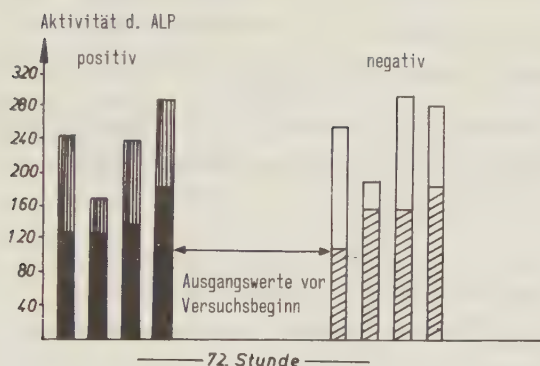


Abb. VII: Aktivitätswerte in der 72. Stunde von SSP-positiven (li. Säulengruppe) und SSP-negativen Kaninchen (re. Säulengruppe). Es wurden jeweils die ersten 4 Kaninchen der positiven und negativen Gruppe zur Darstellung gebracht. Schwarz ausgefüllt oder schräg schraffiert bedeutet die zugehörigen Ausgangswerte der ALP-Aktivität.

der sich im Hängenlassen beim Herausnehmen aus dem Stall, in einer deutlich erhöhten Hauttemperatur, durch Verkriechen in die Ecke und durch fehlende Freßlust ausdrückt. Bei einem Teil der Kaninchen verschlechtert sich der Zustand nach der 2. Injektion zusehends. Ein anderer Teil wird am Ende des 2. Tages wieder munterer und beweglicher. Die histologische Untersuchung der Organe ergibt bei der ersten Gruppe fast immer ein positives SSP; bei der zweiten Gruppe trifft dies wesentlich seltener zu. Eine dritte Gruppe verhält sich indifferent. Trotzdem läßt sich in den meisten Fällen auf Grund der eben geschilderten Symptome recht gut voraussagen, welches Kaninchen ein Sanarelli-Shwartzman-Phänomen aufweisen wird und welches nicht.

- b) In der Versuchsreihe B wird als zweiter Reizstoff Echinacin^(R) zweimal im Abstand von 24 Stunden injiziert. Eine Sanarelli-Shwartzman-Reaktion läßt sich, wie die histologische Auswertung zeigt, bei keinem der 8 behandelten Kaninchen erzielen, trotz sehr hoher Dosierung der zweiten Injektion ($\text{Echinacin}^{(R)} = 2 \text{ ml/Kg Körpergewicht}$). Die Reaktionen der Gesamtleukozyten, der neutrophilen Granulozyten, der Lymphozyten, der Normoblasten und der alkalischen Neutrophilenphosphatase auf $\text{Echinacin}^{(R)}$ sind nicht identisch mit denen nach Endotoxin.

1. Die Gesamtleukozyten (Abb. VIII) reagieren nach der 1.

Echinacingabe mit einer initialen Leukopenie und einer darauf-

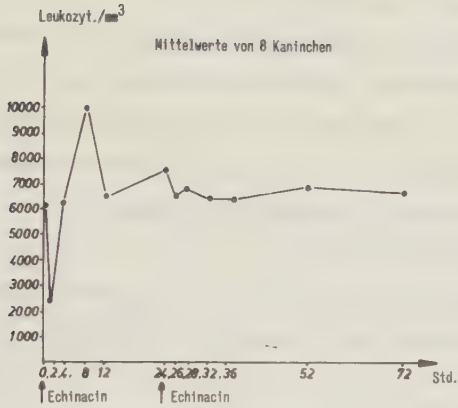


Abb. VIII: Darstellung der Gesamtleukozytenreaktion
bei zweimaliger Echinacin^(R)-Applikation.

folgenden Leukozytose, ähnlich wie nach ETU 25-Applikation. Zeitlich spielt sich dieser Vorgang nach Echinacin^(R) aber wesentlich rascher ab: Die Leukopenie fällt in die 1. - 2. Stunde, das Anstiegsmaximum in die 6. - 8. Stunde; in der 12. Stunde ist die Leukozytenzahl bereits wieder auf ihren Ausgangswert abgesunken.

Wie Abbildung VIII zeigt, ist nach der 2. Echinacin^(R)-Injektion in der 24. Stunde keine eindeutige Reaktion der weißen Blutzellen mehr feststellbar. Ein initialer Abfall in der 26. Stunde ist nur bei 2 von 8 Versuchstieren erkennbar. Bei den übrigen 6 Tieren bleibt die Leukozytenzahl im wesentlichen konstant. Dem Abfall in der 26. Stunde in der graphischen Darstellung der Reaktion (Abb. VIII) entspricht das Absinken der Leukozytenwerte lediglich zweier Kaninchen.

In den weiteren Meßstunden lassen sich bei keinem der 8 Tiere noch charakteristische Änderungen der Leukozytenzahl feststellen. Dieses gleichmäßige Reagieren aller Kaninchen ist der Grund, warum in dieser Versuchsreihe 8 Tiere als ausreichend erachtet werden.

2. Die neutrophilen Granulozyten (Abb. IX) verhalten sich nach der 1. Echinacin-Applikation ähnlich wie die Gesamtleukozyten mit einem maximalen Abfall in der 1. - 2. Stunde und einem Anstiegsmaximum in der 8. Stunde. In der 26. Stunde, also 2 Stunden nach der zweiten Echinacin^(R)-Injektion, ist ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten zu beobachten. Zwar ist er wesentlich niedriger als das erste Maximum in der

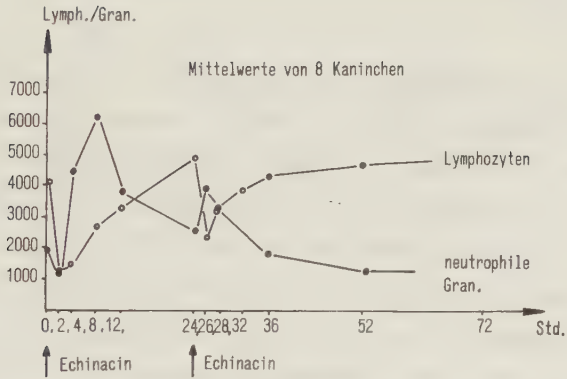


Abb. IX: Reaktion der neutrophilen Granulozyten = ●
 und Lymphozyten = ○
 nach Echinacin^(R)-Applikation.
 ↑ = Zeitpunkt der Injektion.
 Ordinate: Anzahl/mm³

8. Stunde, aber bei 6 von 8 Tieren deutlich erkennbar. Wie die Abbildung IX zeigt, setzt ab der 28. Stunde ein Rückgang der Granulozytenzahl auf den Ausgangswert hin ein.

Der Vergleich der Maxima von Gesamtleukozyten und Granulozyten in der 8. Stunde auf der einen Seite, mit ihren jeweiligen Ausgangswerten vor Versuchsbeginn auf der anderen Seite, ergibt für die Gesamtleukozyten einen statistisch gesicherten Unterschied auf dem 5 % Niveau ($t = 3,0672$; $df = 7$) und für die neutrophilen Granulozyten auf dem 1 % Niveau ($t = 4,13$; $df = 7$).

3. Die Lymphozyten fallen, wie Abbildung IX zeigt, nach der 1. Echinacin-Injektion sehr steil ab. Minimum: 2. - 3. Stunde. Bis zur 24. Stunde, dem Zeitpunkt der 2. Injektion, steigt ihre Zahl konstant an. Nach der 2. Echinacin^(R)-Gabe fallen die Lymphozyten wieder steil ab, nehmen ab der 28. Stunde wieder zu und bleiben dann in Höhe des Ausgangswertes konstant. Statistisch betrachtet ist der Wiederanstieg der Lymphozyten nach dem initialen Abfall in der 2. Stunde auf dem 5 % Niveau signifikant. Verglichen werden nach dem t-Test für abhängige Stichproben die Lymphozytenwerte der 2. und 24. Stunde ($t = 3,41$; $df = 6$).

4. Normoblasten sind nach Echinacinbehandlung bei keinem der 8 Tiere im Blutaussstrich häufiger als bei Kontrolltieren.

5. Die alkalische Neutrophilenphosphatase (Abb. X) reagiert auf Echinacinreize am deutlichsten nach der 1. Injektion. Wie

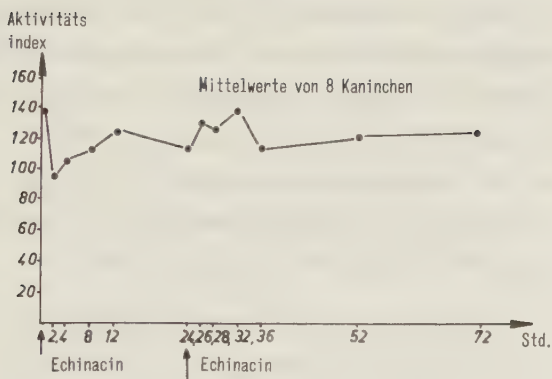


Abb. X: Verhalten der alkalischen Neutrophilenphosphatase nach Echinacin^(R)-Applikation.

aus dem Kurvenverlauf ersichtlich ist, fällt die Aktivität in der 2. Stunde ab und zwar bei allen 8 Tieren. Ebenso erfolgt bei allen Kaninchen ein Wiederanstieg mit Höchstwerten in der 8. - 12. Stunde. Der Ausgangswert wird in den meisten Fällen aber nicht erreicht.

Nach der 2. Echinacingabe bleibt die Aktivität in 5 von 8 Fällen in der 26. und 28. Stunde unverändert. Ähnlich liegen die Verhältnisse in der 32. Stunde. Die Schwankungen der Enzymaktivität nach der 2. Injektion beruhen also lediglich auf den gering abweichenden Reaktionen einiger Kaninchen. Beim Vergleich der Aktivitätswerte vor Versuchsbeginn mit den Aktivitätswerten in der 2. Stunde (Minimum) kann ein Unterschied auf dem 1 % Niveau statistisch gesichert werden ($t = 4,773$; $df = 6$). Beim Vergleich der Meßzahlen der 2. Stunde (Minimum) mit denen der 12. Stunde (Maximum) ergibt sich ebenfalls eine Signifikanz und zwar mit $p = 0,05$; $t = 3,382$; $df = 7$.

6. Allgemein läßt sich folgendes Verhalten bei den im Echinacin-Versuch stehenden Kaninchen beobachten:
(R)
Gewichtsabnahmen sind nicht eindeutig feststellbar. Anzeichen von Fieber, Abgeschlagenheit usw. sind auch hier nach der 1. Injektion vorhanden. Nach einigen Stunden klingen sie jedoch ab. Nach der 2. Injektion von Echinacin^(R) sind keinerlei Krankheitszeichen zu sehen. Ich habe sogar den Eindruck gewonnen, daß alle Kaninchen nach der Behandlung mit Echinacin^(R) munterer waren als vor Beginn der Versuche.

- c) In der Versuchsreihe C wird zweimal physiologische Kochsalzlösung im gleichen Abstand wie Echinacin^(R)- und Endotoxinlösung injiziert. Ferner werden alle Messungen und Verfahren wie in den beiden vorausgehenden Versuchsreihen durchgeführt.

Wie aus Abb. XI ersichtlich ist, sind nach Applikation von NaCl-Lösung keine größeren Schwankungen in der Anzahl von Gesamtleukozyten, neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten sowie in der Aktivität der alkalischen Neutrophilenphosphatase zu finden.

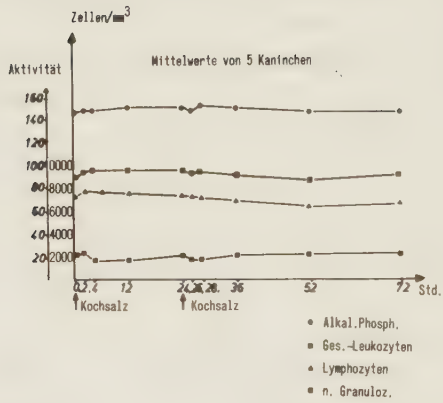


Abb. XI: Kontrollversuche mit physiologischer Kochsalz-lösung.

↑ = Injektion.

IV DISKUSSION

Es war bekannt, daß mit Reizstoffen unterschiedlichster Herkunft eine Leukozytose auslösbar ist.

Ein vorausgehender initialer Abfall der Leukozyten wurde meistens (14, 24, 5, 11) aber nicht immer beobachtet (9).

Mit den von uns verwandten Substanzen ETU 25 und Echinacin^(R) erzielten wir bei Kaninchen nach einmaliger Applikation jeweils im wesentlichen den gleichen Effekt: Eine initiale Leukopenie mit einer darauffolgenden Leukozytose.

Einen Unterschied gab es nur im zeitlichen Ablauf dieser Reaktion.

Wie Abb. II und VIII zeigen, ist die oben geschilderte Leukozytenreaktion 12 Stunden nach der 1. Echinacingabe beendet, während das Maximum nach der 1. Endotoxingabe erst nach 24 Stunden erreicht wird. Durch diese zeitliche Verschiebung der Leukozytenreaktion ist es verständlich, daß die 24-Stunden-Werte von Endotoxin und Echinacin^(R) stark voneinander abweichen und statistisch ein Unterschied auf dem 1 % Niveau gesichert werden kann. ($\chi^2 = 9,375$; $df = 1$)

Angewandt wurde der 4-Felder- χ^2 -Test. Als Kriterium für die Klassifizierung der Meßwerte galt als "größer" (>), wenn ein Wert um mindestens 30 % höher lag als die Ausgangszahl zu Beginn des Versuches. Die rasche Reaktion nach Echinacin^(R) entspricht zeitlich mehr dem Ablauf, wie er beim Menschen nach Applikation pyrogener Stoffe von HEILMEYER (14), MERKER (25), BERG (5), CRADDOCK (10) und anderen gefunden wurde.

Der gleiche phasenhafte Reaktionsablauf wiederholte sich nach der 2. Gabe von ETU 25.

Gesamtleukozyten und neutrophile Granulozyten entsprachen sich bisher völlig im Ablauf der Reaktion.

Abweichend verhielten sich sowohl Gesamtleukozyten als auch Granulozyten nach der 2. Echinacingabe. Die Gesamtleukozytenzahl blieb im wesentlichen konstant. Die neutrophilen Granulozyten stiegen in der 26. Stunde ohne initialen Abfall nur geringfügig an (Abb. IX).

Wie lassen sich die Reaktionen der Gesamtleukozyten und besonders der neutrophilen Granulozyten auf die 1. und 2. Gabe von ETU 25 sowie auf die 1. Gabe von Echinacin^(R) deuten ?

Grundsätzlich können 4 Möglichkeiten erwogen werden, die eine Änderung der Leukozytenzahl des peripheren Blutes bei den gewählten Versuchsbedingungen verursachen können:

1. Änderung der Zahl der neutrophilen Granulozyten, die vom Knochenmark ins Blut abgegeben werden.
2. Verminderte oder vermehrte Abwanderung von Zellen aus dem Blut in das Gewebe.
3. Änderung des an der Gefäßwand (Lungenkapillaren) haftenden Granulozytenanteils.
4. Vermehrter Untergang der neutrophilen Granulozyten.

Als 5. Mechanismus käme eine Rückwanderung von Granulozyten aus dem Gewebe in die Gefäße in Betracht. Seit den gegenteili-

gen Beobachtungen von ALGIRE (1) an Mäusekapillaren wird diese Möglichkeit für sehr unwahrscheinlich gehalten.

Unter "normalen" Bedingungen besteht ein Gleichgewicht zwischen Produktion bzw. Ausschwemmung der Granulozyten aus den Bildungsstätten und dem Untergang bzw. der Abwanderung in die Gewebe.

Der initiale Abfall der Granulozyten (Gesamtleukozyten) nach Reizstoffgabe könnte mit der Entfernung dieser Zellen aus dem zirkulierenden Blut erklärt werden. Für diese Annahme sprechen die Forschungsergebnisse von ATHENS (2), u.a., die mit Hilfe von radioaktiv markierten Granulozyten nachwiesen, daß der Anteil der Zellen, der an den Kapillarwänden haftet, gerade in der Zeit zunimmt, in der der initiale Abfall beobachtet wird. Dieser Effekt könnte durch eine vom Reizstoff ausgelöste erhöhte Agglutinationsfähigkeit der Granulozyten mitbedingt sein, die auch bei unseren Versuchen aufgefallen war.

Die Leukozytose könnte man entweder mit einer direkten Stimulierung der Ausschwemmung aus dem Knochenmark durch den Reizstoff oder durch eine Stimulierung der Ausschwemmung über eine nervale oder hormonelle Vermittlung erklären. Eine große Reserve an Granulozyten, die eine rasche Ausschwemmung ermöglicht, ist im Knochenmark vorhanden. Die Größe dieser Reserve wird von CRADDOCK auf das 40-fache der zirkulierenden Leukozyten geschätzt (11).

Differenziertere Untersuchungen weisen darauf hin, daß

ein wesentlich komplizierterer Mechanismus für die Reaktion der Leukozyten verantwortlich ist. So fanden CHERVENICK und Mitarbeiter (9) bei Applikation steigender Dosen Endotoxin, daß die Antwort der Granulozyten abhängig von der Dosis ist. Mit relativ kleinen Dosen erzielten sie einen sofortigen und stärkeren Anstieg als mit größeren Dosen, durch die zunächst eine Leukopenie entstand. Gleichzeitige Untersuchungen am Knochenmark ergaben, daß bei kleinen Dosen weniger Zellen als nach großen Dosen aus dem Knochenmark entlassen werden. In Abhängigkeit von der Dosis überwiegt also einmal die Mobilisierung aus den Depots - bei kleinen Dosen - und das andere Mal - bei hohen Dosen - die Entfernung der Granulozyten aus dem zirkulierenden Blut.

Bei unseren Untersuchungen konnte eine Abhängigkeit zwischen der Höhe der Reizstoffdosen und dem Reaktionsablauf nicht beobachtet werden. Eine Erklärung für diese Befunde könnte man darin sehen, daß die niedrigen Dosierungen in unseren Versuchen für die Auslösung des erstgeschilderten Effektes schon zu hoch lagen.

CHERVENICK (9) vermutet, daß die Reizsubstanz nicht direkt auf das Knochenmark wirkt, sondern indirekt durch eine Reduzierung der peripheren Granulozytenzahl über einen humoralen oder nervalen Faktor. Ähnliche Überlegungen stellen auch FLIEDNER und CRONKITE (13) an. In ihren Untersuchungen über Reifung und Schicksal von Granulozyten mit Tritium markiertem Thymidin (^3H -TDR) kamen sie zu dem Ergebnis, daß die meisten Blutgranulozyten nach Minuten bis Stunden aus dem Kreislauf wieder emi-

gieren und nur eine sehr geringe Anzahl im Kreislauf verbleibt, schließlich altert und vom RES abgebaut wird (6, 7). Dieser geringe Anteil könnte im Zusammenspiel mit dem RES eine Rolle spielen bei der Regulation der Granulozytenzahl im peripheren Blut. Nach dieser Hypothese muß jeder "periphere Mehrverbrauch" an Granulozyten eine Minderbesetzung des RES mit gealterten Granulozyten nach sich ziehen. Diese "Minderbesetzung" des Kontrollorgans RES führt dann über unbekannte Mechanismen zur Ausschüttung von Granulozyten aus dem Knochenmark.

In gleicher Richtung weisen auch Untersuchungen mit Pyrexal bei Carzinomkranken. Auch bei nicht faßbaren Knochenmarksmetastasierungen und ohne Bestrahlung oder Cytostatika-Behandlung fanden STREICHER und LARSEN eine signifikant niedrigere Beizantwortung auf Pyrexal (34). Bei verminderter Leukozytenreaktion wurde eine erhebliche Funktionseinbuße des RES gefunden. Bestätigt wurden diese Befunde von ERHART und FISCHER (12). Wenn man annimmt, daß das RES durch Tumorabbauprodukte blockiert oder geschädigt ist, so wäre die geringe Reaktion des Knochenmarks auf Pyrexal durch Ausfall eines Gliedes im "Feed back"-Mechanismus zu erklären.

In diesem Zusammenhang sind noch die Untersuchungen von HELLMAN und FINK (15) zu erwähnen, die eine schwächere Antwort auf Pyrexal in Bestrahlungsversuchen nur dann fanden, wenn wirklich große Teile des Knochenmarks geschädigt worden waren. Dagegen fanden sich bei Tumorpatienten unabhängig von der Behandlung in einigen Fällen schon sehr früh eine mangelhafte

Reizbeantwortung.

Nach den bisher geschilderten Befunden und Hypothesen ließe sich der Reaktionsablauf der Leukozyten folgendermaßen deuten:

Durch Gabe eines Reizstoffes werden die zirkulierenden Granulozyten derart verändert, daß sie agglutinieren und an den Lungenkapillärwänden haften bleiben und somit dem zirkulierenden Blut entzogen werden. (= Initiale Leukopenie). Gleichzeitig wird das Knochenmark veranlaßt, seine in Reserve gehaltenen Granulozyten auszuschütten. (= Leukozytose). Bei der Vermittlung des Reizes könnte das RES eine Rolle spielen. Als adäquater Reiz für das RES wäre der zu dieser Zeit verminderte Anteil an gealterten Granulozyten anzusehen, der vom RES abgebaut wird.

Das von uns gefundene Verhalten der alkalischen Neutrophilenphosphatase nach Endotoxingabe entspricht im Prinzip den Untersuchungsergebnissen, die von HEILMEYER (14), PLENERT (30), MERKER (13) und anderen beim Menschen nach Applikation von Reizsubstanzen gefunden wurden. So fielen auch bei unseren Versuchen die niedrigen Aktivitätswerte des Enzyms mit den Granulozytenmaxima zusammen. Nur traten bei den Kaninchen die vergleichbaren Reaktionen später auf.

Der Abfall der alkalischen Neutrophilenphosphataseaktivität während der Leukozytose ließe sich dadurch erklären, daß eine neue Population von Granulozyten im Blut erscheint, die ein anderes Enzymmuster aufweist und in Bezug auf die alkalische Phosphatase noch nicht ausgereift ist.

Es ist durch die Untersuchungen der letzten Jahre bekannt, daß die Aktivität der alkalischen Neutrophilenphosphatase mit der Reifung parallel zunimmt, so daß cytochemisch und biochemisch in den segmentkernigen Neutrophilen die stärkste Aktivität erfaßt wird.

Der Anstieg der Enzymaktivität während des initialen Abfalls der Granulozyten könnte dadurch zustande kommen, daß das Endotoxin bevorzugt auf die jüngeren Granulozyten einwirkt und sie zur Agglutination bringt. Die dann überwiegenden reiferen Granulozyten wären für das vorübergehende Ansteigen der alkalischen Neutrophilenphosphatase verantwortlich. Schwierig zu deuten ist der große Anstieg der Aktivität in der 72. Stunde.

Das Verhalten der alkalischen Neutrophilenphosphatase nach Echinacingabe weicht von den oben geschilderten Reaktionen stark ab (Abb. VI und Abb. X). Eine Erklärung für den Ablauf dieser Reaktion ist uns nicht möglich.

Außer den schon erwähnten Abweichungen in der Reaktion auf Endotoxin und Echinacin^(R) in Bezug auf Gesamtleukozyten und Granulozyten sowie in Bezug auf die alkalische Neutrophilenphosphatase gibt es noch weitere Abweichungen zwischen der Reaktion nach ETU 25 und Echinacin^(R):

Erythroblasten treten lediglich nach Endotoxingabe auf. Das Sanarelli-Shwartzman-Phänomen läßt sich nur durch Endotoxin auslösen, nicht nach Echinacin^(R) in der gewählten Dosierung. Ferner war allgemein zu beobachten, daß die Kaninchen

auf Endotoxin viel stärker mit Krankheitssymptomen reagieren als nach Echinacin^(R).

Alle diese Beobachtungen sprechen dafür, daß Echinacin^(R) als Reizkörper wirksam ist, der Organismus jedoch anders reagiert als nach Endotoxingaben.

Es erscheint möglich, daß es nach größeren Mengen Echinacin^(R), das aus pflanzlichen Polysacchariden besteht, zu einer vorübergehenden Blockade des RES kommt, so daß der "Feed back"-Mechanismus unterbrochen wird und die Stimulierung des Knochenmarkes ausbleibt. Nach dieser Hypothese wäre die geringe bzw. ausbleibende Reaktion der Gesamtleukozyten, der neutrophilen Granulozyten und der alkalischen Neutrophilenphosphatase nach der 2. Echinacin-Applikation verständlich.

Es bleibt die Frage, ob die stärkere Reaktion nach Endotoxin zum Teil durch Membranschäden an Gefäßen und Sinusoiden des Knochenmarkes bedingt ist, während Echinacin^(R) diesen Effekt nicht ausübt. Für die geringe toxische Wirkung von Echinacin^(R) sprechen die Untersuchungsergebnisse von KOCH und UEBEL (19), die auch nach 30-fach erhöhter Dosis von Echinacin^(R) (6 cm^3 i.v. bei 300 g schweren Meerschweinchen) keine toxischen Schädigungen an der Nebennierenrinde hervorrufen konnten.

Ein akutes Syndrom (vegetative Gesamtschaltung im Sinne von HOFF) scheint mit beiden Substanzen erreichbar zu sein.

HOFF (16) und SELYE (32) die sich besonders intensiv mit dem Zustandekommen einer solchen Reaktion beschäftigten, konnten durch zahlreiche Experimente beweisen, daß eine hormonale und nervale Steuerung vorhanden ist.

Die Auslösung der nerval bedingten Reaktion findet im Zwischenhirn statt und ist von HOFF mit Durchschneidungsversuchen bewiesen worden. KOMIYA (20) lokalisierte dieses Regulationszentrum in das Tuber cinerium des Hypothalamus. Von dort verlaufen die efferenten Bahnen durch das Halsmark und verlassen das Rückenmark oberhalb des 3. Dorsalsegments, um über die N. splanchnici zum Ganglion coeliacum und weiter zur Leber und Niere zu gelangen. KOMIYA vermutet, daß das Leukopoetin in Leber und Niere gebildet wird und nach seiner Freisetzung direkt auf die Granulopoese des Knochenmarkes wirkt.

Die zu Beginn diskutierte Hypothese über die Ausschüttung von Leukozyten aus dem Knochenmark nach Absinken der zirkulierenden Leukozyten, die im RES abgebaut werden, läßt sich mit den Untersuchungsergebnissen von HOFF und KOMIYA in Einklang bringen.

Das RES wäre danach als peripheres Kontrollorgan aufzufassen auf dessen Meldung zum Zwischenhirn hin der nerval-humorale Mechanismus in Gang gesetzt wird, der schließlich zur Ausschüttung von Leukozyten aus dem Knochenmark führt. Nach Endotoxin gaben geschieht dies nach der 1. und 2. Injektion, nach Echinocin^{1R} lediglich nach der 1. Applikation.

Ein gesicherter hormoneller Mechanismus, der besonders durch Untersuchungen von SELYE (32) erforscht wurde, besteht in einer Reaktion des Hypophyser-NNR-Systems. Durch einen Reiz oder Stress kommt es zu einer Beeinflussung der Hypophyse. Das daraufhin freigesetzte ACTH wirkt auf die NNR. TONUTTI (35)

konnte statistisch eine signifikante Zunahme des Gewichts der Nebenniere nachweisen. Eine progressive Transformation konnte sowohl nach Gaben von bakteriellen Substanzen als auch nach Echinacin^(R) (KOCH und UEBEL) beobachtet werden (19).

Die Ausschüttung von NNR-Hormonen bedingt unter anderem auch einen Abfall der Lymphozyten. Diese Wirkung der NNR-Hormone dürfte bei allen Versuchen mit ETU 25 und Echinacin^(R) wirksam werden. Nach beiden Substanzen fiel das gleichartige Verhalten der Lymphozyten auf.

Ferner könnten die Glukokortikoide, wie PLENERT (30) u.a. annehmen auch die Aktivität der alkalischen Phosphatase in den neutrophilen Granulozyten beeinflussen, indem sie einen Anstieg der Aktivität bedingen. Vielleicht ist auf diese Weise der große Anstieg der Enzymaktivität in der 72. Stunde nach ETU 25 zu deuten.

Ein Unterschied in der Reaktion der Leukozyten bei Tieren mit und ohne Sanarelli-Schwartzmen-Phänomen besteht nach unseren Ergebnissen nicht. Danach kann angenommen werden, daß die Leukozytenreaktion primär nur wenig mit der Auslösung des SSP zu tun hat.

V ZUSAMMENFASSUNG

Kaninchen wurden mit zwei Reizsubstanzen unterschiedlicher Herkunft behandelt.

In der Versuchsreihe A (20 Tiere) wurde Endotoxin ETU 25 zweimal i.v. appliziert.

In der Versuchsreihe B (8 Tiere) geschah dies mit Echinacin^(R).

In Kontrollversuchen wurde physiologische Kochsalzlösung gegeben (5 Kaninchen in Versuchsreihe C).

Die 2. Injektion erfolgte jeweils 24 Stunden nach der 1. Gabe und mit erhöhter Dosis. Das Verhalten der Gesamtleukozyten, der neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und der alkalischen Neutrophilenphosphatase wurde in bestimmten Zeitabständen im peripheren Blut kontrolliert. Dies geschah jeweils vor der 1. Injektion, in der 2., 4., 12. und 24. Stunde. Nach der 2. Injektion wurden Blutentnahmen in der 26., 28., 36., 52. und 72. Stunde vorgenommen.

Es zeigte sich, daß das Verhalten der Gesamtleukozyten, Granulozyten und der alkalischen Phosphatase der neutrophilen Granulozyten nach beiden Reizstoffen differierte. Dagegen reagierten die Lymphozyten in beiden Versuchsreihen im wesentlichen gleich:

Nach Applikation von ETU 25 reagierten die Gesamtleukozyten zunächst mit einem initialen Abfall in der 2. - 4. Stunde. Nach Wiederanstieg wurde in der 24. Stunde der höchste Wert erreicht. Nach der 2. Injektion

der gleichen Substanz in erhöhter Dosis war im wesentlichen die gleiche Reaktion wie nach der 1. Injektion zu beobachten. Die Lymphozytenzahl fiel nach der 1. und 2. Endotoxingabe ab. Danach kam es im Verlauf von 3 Stunden zu einem Wiederanstieg, ohne daß der Ausgangswert überschritten wurde.

Die alkalische Neutrophilenphosphatase reagierte nach Endotoxin mit einem Anstieg ihrer Aktivität zur Zeit der initialen Leukopenie und mit einem Abfall ihrer Aktivität zur Zeit der Leukozytose. Nach der 2. Injektion zeigte die Enzymaktivität das gleiche Verhalten. Eine sehr starke Zunahme der Aktivität wurde 72 Stunden nach der 1. Injektion beobachtet.

Nach der 1. Gabe von Echinacin ^(R) reagierten Gesamtleukozyten und Granulozyten in ähnlicher Weise wie nach Endotoxin. Lediglich Abfall und Anstieg der Zellen erfolgten rascher. Nach der 2. Echinacin ^(R)-Applikation kam es zu keiner wesentlichen Änderung der Zahl der Gesamtleukozyten und neutrophilen Granulozyten.

Die Lymphozyten zeigten nach beiden Injektionen ein ähnliches Verhalten von Abfall und Wiederanstieg wie nach Endotoxin ETU 25-Applikation.

Die alkalische Neutrophilenphosphatase fiel nach der ersten Echinacingabe ab und stieg im weiteren Verlauf zu ihrem Ausgangswert hin an. Nach der zweiten Echinacingabe erfolgte keine wesentliche Änderung der Aktivität.

Für den Reaktionsablauf der Gesamtleukozyten bzw. Granulozyten nach Endotoxingabe oder einmaliger Echinacininjektion

wird folgender Mechanismus vermutet:

Durch die applizierten Reizstoffe werden die zirkulierenden Granulozyten derart verändert, daß sie agglutinieren, an den Lungenkapillärwänden haften bleiben und somit dem Kreislauf entzogen werden (= Initiale Leukopenie). Gleichzeitig wird das Knochenmark veranlaßt, seine in Reserve gehaltenen Granulozyten auszuschütten (= Leukozytose).

Bei der Vermittlung des Reizes könnte das RES eine Rolle spielen. Als adäquater Reiz wäre der zu dieser Zeit verminderte Anteil an gealterten Granulozyten anzusehen, der vom RES abgebaut wird.

Das gleichartige Verhalten der Lymphozyten nach allen Reizstoffgaben dürfte durch eine Ausschüttung von Glukokortikoiden bedingt sein.

Der Abfall der alkalischen Phosphataseaktivität in den neutrophilen Granulozyten während der Leukozytose im ETU 25-Versuch ließe sich durch Ausschwemmung einer neuen Population relativ unreifer Granulozyten erklären. Die große Zunahme der Aktivität in der 72. Stunde beruht wahrscheinlich auf Glukokortikoidwirkung.

Abweichungen in der Reaktion auf Endotoxin und Echinacin^(R) treten sowohl in Bezug auf Gesamtleukozyten, Granulozyten als auch in Bezug auf Erythroblasten und bestimmten Allgemeinsymptomen auf.

Es wird angenommen, daß die "mildere" Wirkung von Echinacin^(R) auf einer Blockade des RES und damit des Rückkopplungsmechanis-

mus für die Ausschüttung von Leukozyten beruht. Ferner werden Membranschäden an Gefäßen und Sinusoiden des Knochenmarkes nach Endotoxingabe diskutiert.

In beiden Versuchsreihen wurde die 2. Applikation in einem solchen Zeitabstand zur 1. vorgenommen (24 Stunden), daß die Auslösung eines Sanarelli-Schwartzman-Phänomens (=SSP) theoretisch möglich war. Bei Endotoxingaben wurde es in 8 von 17 Fällen erreicht. Nach Echinacin^(R) kam es in keinem Fall zum Auftreten eines SSP.

Ein Vergleich der verschiedenen Parameter bei Tieren mit SSP und ohne SSP ergab keinen charakteristischen Unterschied.

Danach scheint die Art der Leukozytenreaktion keine wesentliche Bedeutung für die Auslösung des SSP zu haben.

VI L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- (1) ALGIRE, G.H. zitiert aus Brecher, G. in
Physiologie und Physiopathologie
der weißen Blutzellen.
H. Braunsteiner, Herausg. G. Thieme,
Stuttgart 1959
- (2) ATHENS, J.W., O.P.HAAB, S.O.RAAB, A.M. MAURER,
H. ASHENBRUCKER, G.E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE:
Leukokinetic studies IV. The total
blood, circulating and marginal
granulocyte pools and the granulocyte
turnover rate in normal subjects.
J. clin. Invest. 40, 989 (1961)
- (3) BECKER, R.M: Suppression of local tissue reaction
(Shwartzman phenomenon) by nitrogen
mustard, benzol and x-ray irradiation.
Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 69, 247
(1948)
- (4) BENNET, I.L. and E.CLUFF: Influence of nitrogen mustard
upon reactions to bacterial endotoxins
Shwartzman phenomenon and fever.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 304
(1952)

- (5) BERG, G., W. BRICHZY, J. BRAUNHOFER und K.Th. SCHRICKER :
Klinische Erfahrung mit pyrogenen
Lipopolysacchariden.
Verh. dtsh. Ges. inn. Med. 62, 253
(1965)
- (6) BOGGS, D.R., J.W. ATHENS, G.E. CARTWRIGHT and M.M. WINTROBE:
Leukokinetic studies. IX. Experimental
evaluation of a model of granulopoiesis.
J.clin. Invest. 44, 643 (1965)
- (7) BOLL, I. :
Granulozytopenie unter physiologischen
und pathologischen Bedingungen.
Exp. Med., Path.u.Kl., Band 17 (1966)
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg,
New-York
- (8) BRODELL, H., and S.N. SWISHER :
Studies of leukocyte alkaline
phosphatase determined by clinically
applicable histochemical method.
Clin. Res. Proc. 2, 58 (1954)
- (9) CHERVENICK, P.A., D.R. BOGGS, J.C. MARSH, G.E. CARTWRIGHT
and M.M. WINTROBE : The blood and bone marrow neutrophil
response to graded doses of endotoxin
in mice.
Proc. Soc. Exp. Biol.Med. 126, 891
(1967)

- (10) CRADDOCK, C.G. , S. PERRY, L.E.VENTZKE and J.S. LAWRENCE:
Evaluation of marrow granulocytic
reserves in normal and disease states.
Blood 15, 840 (1960)
- (11) CRADDOCK, C.G. zitiert aus M. Essers :
Zur Regulation der Blutkörperchen-
systeme.
Dtsch. med. Wschr. 92, 2281 (1967)
- (12) ERHART, H., Th. FISCHER : (Klin.Wschr., 1962, 670) zitiert
aus H.-J. Streicher und H. Larsen:
Knochenmarksfunktionsprüfung bei
Patienten mit bösartigen Geschwülsten.
Bruns' Beiträge zur Klin.Chir.
215, 435 (1967)
- (13) FLIEDNER, T.M. und E.P. CRONKITE:
Reifung, Lebenserwartung und Schicksal
neutrophiler Granulozyten.
Med. Welt 466 (1964)
- (14) HEILMEYER, J.: Funktionsprüfung der Leukoopoese des
Knochenmarks.
Dtsch. Med. Wschr. 82, 644 (1957)
- (15) HELLMAN, S. and M.E. FINK:
Granulocyte reserve following radiation
therapy as studied by the response to
a bacterial endotoxin.
Blood 25, 310 (1965)

- (16) HOFF, F. und St. v. LINHARDT:
Über die zentral-nervöse Regulation
des Blutes.
Z. exp. Med. 63, 277 (1928)
- (17) HOFF, F.:
Fieber, unspezifische Abwehrvorgänge,
unspezifische Therapie.
Thieme-Verlag, Stuttgart 1957
- (18) KAPLOW, L.S.:
A histochemical procedure for
localizing and evaluating leukocyte
alkaline phosphatase activity in
smears of blood and marrow.
Blood 10, 1023 (1955)
- (19) KOCH, Fr. E. und H. UEBEL:
Experimentelle Untersuchungen über
den Einfluß von Echinacea purpurea
auf das Hypophysen-NNR-System.
Arzneimittelforsch. 3, 133 (1953)
- (20) KOMIYA, E.:
Die zentralnervöse Regulation des
Blutbildes.
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1956
- (21) KRON, R.:
Die Reiskörpertherapie der rheumati-
schen Erkrankungen.
Hippokrates 34, 730 (1963)

- (22) LAMBERS, K.: Cytochemische Untersuchungen an Blutzellen und ihre Bedeutung für die Klinik der Blutkrankheiten. Internist 6, 269 (1960)
- (23) McKay, D.G., W. Margaretten and L.L.phillips : The role of the leukocyte in the generalized Shwartzman reaction. Lab. Invest. 16, 511 (1967)
- (24) MERKER, H.: Der Aktivitätswechsel der alkalischen Neutrophilenphosphatase im Pyrexalreizversuch und die Bedeutung dieses Testes für die Klinik einiger Blutkrankheiten. Folia Haemat. 6, 153 (1961)
- (25) MERKER, H.: Die alkalische Leukozytenphosphatase - ihre hämatologische und allgemein klinische Bedeutung. Dtsch. med. Wschr. 90, 484 (1965)
- (26) MOSTBECK, A. und M.STUDLAR : Experimentelle Untersuchungen eines Pflanzenextraktes aus Echinacea purpurea Moench als unspezifischer Reizkörper. Wiener Med. Wschr. 112, 259 (1962)

- (27) ORZECZOWSKI, G.: Über die Steigerung der unspezifischen Abwehrreaktionen des menschlichen Körpers.
Zeitschr. f. ärztl. Fortb. 52, (1963)
- (28) ORZECZOWSKI, G.: Pflanzliche Polysaccharide zur Steigerung der körpereigenen Abwehr.
Med. Welt 293 (1963)
- (29) ORZECZOWSKI, G.: Unspezifische Resistenz.
Med. Monatsschr. 16, 805 (1962)
- (30) PLENERT, W.: Studien zur Zytochemie der Leukozytenphosphatase im Kindesalter.
II. Mitteilung: Der Einfluß von Operation und Infektion auf die alkalische Granulozytenphosphatase.
Folia Haematol. 288 (1962)
- (31) SCHLANG, H.A.: The Shwartzman phenomenon. Inhibitory action of nitrogen mustard.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 74, 749
(1950)
- (32) SELYE, H.: Stress. Montreal 1950
The story of the adaption syndrom.
Acta Inc. Medical Publishers
Montreal / Canada 1952

- (33) STETSON, C.A. and Good, R.A. :

Studies on the mechanism of the
Shwartzman phenomenon. Evidence for
the participation of polymorphonuclear
leukocytes in the phenomenon.
J. Exp. Med. 93, 49 (1951)

- (34) STREICHER, H.-J. und H. LARSEN :

Knochenmarkfunktionsprüfung bei
Patienten mit bösartigen Geschwülsten.
Bruns' Beitr. z. klin.Chir. 215, 435
(1967)

- (35) TONUTTI, E. :

Zur Histophysiologie der Nebennieren-
rinde : Bau und Histochemie bei der
Atrophie des Organs nach Hypophysektomie.
Zschr. mikrosk. -anat. Forsch.
51, 346 (1942)

LEBENS LAUF

Am 1. März 1942 wurde ich in Stecken/CSSR geboren. 1949 erfolgte die Einschulung in Mardorf, Kreis Fritzlar-Homberg/Hessen. Nach neunjährigem Besuch der August-Vilmar-Schule in Homberg schloß ich 1962 die Schulausbildung mit der Reifeprüfung ab.

Nach zwei Jahren Bundeswehrdienst erfolgte im Sommersemester 1964 die Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät der Justus Liebig-Universität Gießen.

Die naturwissenschaftliche Vorprüfung legte ich im Frühjahr 1964, die ärztliche Vorprüfung im Sommer 1966 ab.

Nach sechs klinischen Semestern in Gießen habe ich die ärztliche Prüfung am 26. 1. 1970 bestanden.

FOTO-DRUCK LENZ · 63 Gießen · Riegelpfad 32/ Ecke Ludwigstraße
Telefon 0641-77449